CE

FLEX
Monoclonal Mouse
Anti-Human
Renal Cell Carcinoma Marker
Clone SPM314
Ready-to-Use
(Dako Autostainer/Autostainer Plus)

Code IS075

English

Intended use

For in vitro diagnostic use.

FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Renal Cell Carcinoma Marker, Clone SPM314, Ready-to-Use (Dako Autostainer/Autostainer Plus), is intended for use in immunohistochemistry together with Dako Autostainer/Autostainer Plus instruments. This antibody is useful for the identification of renal cell carcinoma. The clinical interpretation of any staining or its absence should be complemented by morphological studies using proper controls and should be evaluated within the context of the patient's clinical history and other diagnostic tests by a qualified pathologist.

Synonyms for antigen

gp200 (1).

Summary and explanation

Renal cell carcinoma marker, gp200, is a surface membrane glycoprotein localized to the brush border of the pars convoluta and pars recta segments of the proximal renal tubule and focally on the luminal surface of the Bowman's capsule adjoining the outgoing proximal tubule. The expression among other normal tissue types is reported to be restricted to the luminal surface of breast lobules and ducts and epididymal tubular epithelium. Additionally, cytoplasmic expression has been reported in parathyroid parenchymal cells and focal immunoreactivity found in thyroid colloid.

RCC marker expression has been reported in 80-93% of primary renal cell carcinomas and in 67-84% cases of metastatic renal cell carcinoma from sites including adrenal, bladder, bone, brain, breast, liver, lung, lymph node, muscle, pancreas, small bowel, thyroid and trachea (1,2). Several published studies demonstrate that the majority of clear cell (84-92%) and papillary type (93-100%) renal cell carcinomas are RCC marker-positive, however lower positivity rates have also been reported (1-5). In contrast, expression of RCC marker is much less frequent in chromophobe cell carcinomas (0-45%) and only rare focal reactivity has been observed in renal oncocytoma (0-14%) (2, 3, 4, 5).

Expression of RCC marker in tumors other than renal cell carcinomas has been reported in 10/22 (45%) intraductal and infiltrating ductal carcinomas of the breast and in 7/8 (88%) in situ and infiltrating lobular breast carcinomas (1,2). Cell surface and cytoplasmic expression was observed in 13/13 (100%) parathyroid adenomas, whereas focal expression was exhibited in 4/11 (36%) embryonal carcinomas of the testis and 3/40 (8%) epithelioid mesotheliomas, where staining was limited to a few cells or small foci of the tumor (1, 2, 5).

Refer to Dako's *General Instructions for Immunohistochemical Staining* or the detection system instructions of IHC procedures for: 1) Principle of Procedure, 2) Materials Required, Not Supplied, 3) Storage, 4) Specimen Preparation, 5) Staining Procedure, 6) Quality Control, 7) Troubleshooting, 8) Interpretation of Staining, 9) General Limitations.

Reagent provided

Ready-to-use monoclonal mouse antibody provided in liquid form in a buffer containing stabilizing protein and 0.015 mol/L sodium azide.

Clone: SPM314. Isotype: IgG2b, kappa.

Immunogen

Microsomal fraction of human renal cortical tissue homogenate.

Specificity

In Western blotting of Caki-1 cell lysate, the antibody labels a band of approximately 200 kDa corresponding to the expected molecular weight of renal cell carcinoma marker.

Precautions

1. For professional users.
2. This product contains sodium azide (NaN_3), a chemical highly toxic in pure form. At product concentrations, though not classified as hazardous, sodium azide may react with lead and copper plumbing to form highly explosive build-ups of metal azides. Upon disposal, flush with large volumes of water to prevent metal azide build-up in plumbing.
3. As with any product derived from biological sources, proper handling procedures should be used.
4. Wear appropriate Personal Protective Equipment to avoid contact with eyes and skin.
5. Unused solution should be disposed of according to local, State and Federal regulations.

Storage

Store at 2-8 °C. Do not use after expiration date stamped on vial. If reagents are stored under any conditions other than those specified, the conditions must be verified by the user. There are no obvious signs to indicate instability of this product. Therefore, positive and negative controls should be run simultaneously with patient specimens. If unexpected staining is observed which cannot be explained by variations in laboratory procedures and a problem with the antibody is suspected, contact Dako Technical Support.

Specimen preparation including materials required but not supplied

The antibody can be used for labeling formalin-fixed, paraffin-embedded tissue sections. Tissue specimens should be cut into sections of approximately 4 µm.

Pre-treatment with heat-induced epitope retrieval (HIER) is required. Optimal results are obtained by pretreating tissues using EnVision™ FLEX, Target Retrieval Solution, Low pH (10x), (Dako Autostainer/Autostainer) (Code K8015).

Deparaffinized sections: Pre-treatment of deparaffinized formalin-fixed, paraffin-embedded tissue sections is recommended using Dako PT Link (Code PT100/PT101). For details, please refer to the PT Link User Guide.

Follow the pre-treatment procedure outlined in the package insert for EnVision™ FLEX, Target Retrieval Solution, Low pH (10x), (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Code K8015). The following parameters should be used for PT Link: Pre-heat temperature: 65 °C; epitope retrieval temperature and time: 97 °C for 20 (±1) minutes; cool down to 65 °C. Remove Autostainer slide rack with slides from the PT Link tank and immediately dip slides into a jar/tank (e.g., PT Link Rinse Station, Code PT109) containing diluted room temperature EnVision™ FLEX Wash Buffer (10x), (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Code K8012). Leave slides in Wash Buffer for 1-5 minutes.

Paraffin-embedded sections: As alternative specimen preparation, both deparaffinization and epitope retrieval can be performed in the PT Link using a modified procedure. See the PT Link User Guide for instructions. After the staining procedure has been completed, the sections must be dehydrated, cleared and mounted using permanent mounting medium.

The tissue sections should not dry out during the treatment or during the following immunohistochemical staining procedure. For greater adherence of tissue sections to glass slides, the use of Dako Silanized Slides (Code S3003) is recommended.

Staining procedure including materials required but not supplied

The recommended visualization system is EnVision™ FLEX+, Mouse, High pH, (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Code K8012), replacing the High pH Target Retrieval Solution from this kit with EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, Low pH (10x), (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Code K8015). The staining steps and incubation times are pre-programmed into the software of Dako Autostainer/Autostainer Plus instruments, using the following protocols:

Template protocol: FLEXRTU2 (200 µL dispense volume) or FLEXRTU3 (300 µL dispense volume)

Autoprogram: RCC (without counterstaining) or RCCH (with counterstaining)

The Auxiliary step should be set to “rinse buffer” in staining runs with ≤10 slides. For staining runs with >10 slides the Auxiliary step should be set to “none”. This ascertains comparable wash times.

All incubation steps should be performed at room temperature. For details, please refer to the Operator’s Manual for the dedicated instrument. If the protocols are not available on the used Dako Autostainer instrument, please contact Dako Technical Services.

Optimal conditions may vary depending on specimen and preparation methods, and should be determined by each individual laboratory. If the evaluating pathologist should desire a different staining intensity, a Dako Application Specialist/Technical Service Specialist can be contacted for information on re-programming of the protocol. Verify that the performance of the adjusted protocol is still valid by evaluating that the staining pattern is identical to the staining pattern described in “Performance characteristics”.

Counterstaining in hematoxylin is recommended using EnVision™ FLEX Hematoxylin, (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Code K8018). Non-aqueous, permanent mounting medium is recommended.

Positive and negative controls should be run simultaneously using the same protocol as the patient specimens. The positive control tissue should include kidney and the cells/structures should display reaction patterns as described for this tissue in “Performance characteristics” in all positive specimens. The recommended negative control reagent is FLEX Negative Control, Mouse, (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Code IS750).

Staining interpretation

The cellular staining pattern is membranous. Cytoplasmic staining may be observed.

Performance characteristics

Normal tissues: Among normal tissues, the antibody labeled the apical surface of renal cortical tubule epithelium (proximal tubules) and focal areas of the Bowman’s capsule in 3/3 kidneys. Endocrine cells were labeled in 2/3 parathyroid and focal expression was observed in follicular cells and colloid of 1/2 thyroids. In 2/2 breast tissues, labeling was regionally present along the luminal surfaces and in intraluminal secretory material of lobules and ducts. No labeling has been observed in other tissue types tested including adrenal, bone marrow, cerebellum, cerebrum, cervix, colon, esophagus, heart, liver, lung, mesothelial cells, peripheral nerve, ovary, pancreas, pituitary, prostate, salivary gland, skeletal muscle, skin, small intestine, spleen, stomach, testis, thymus, tonsil and uterus.

Français — Réf. IS075

Utilisation prévue

Pour utilisation diagnostique *in vitro*.

L'anticorps FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Renal Cell Carcinoma Marker, Clone SPM314, Ready-to-Use (Dako Autostainer/Autostainer Plus), est destiné à être utilisé en immunohistochimie avec les appareils Dako Autostainer/Autostainer Plus. Cet anticorps est utile pour l'identification des carcinomes à cellules rénales. L'interprétation clinique de toute coloration ou son absence doit être complétée par des études morphologiques en utilisant des contrôles appropriés et doit être évaluée en fonction des antécédents cliniques du patient et d'autres tests diagnostiques par un pathologiste qualifié.

Synonyme de l'antigène

gp200 (1).

Résumé et explication

Le marqueur des carcinomes à cellules rénales, gp200, est une glycoprotéine membranaire de surface localisée sur la bordure en brosse du tubule contourné (pars convoluta) et du tubule droit (pars recta) du tubule rénal proximal et de manière localisée sur la surface luminale de la capsule de Bowman adjacente au tubule proximal sortant. L'expression parmi d'autres types de tissus normaux est généralement limitée à la surface luminale des lobules et des canaux mammaires et à l'épithélium tubulaire de l'épididyme. De plus, une expression cytoplasmique a été observée dans les cellules parenchymateuses de la parathyroïde et une immunoréactivité localisée a été constatée dans la colloïde thyroïdienne.

L'expression du marqueur des carcinomes à cellules rénales (CCR) a été observée dans 80 à 93 % des carcinomes à cellules rénales primitifs et dans 67 à 84 % des cas de carcinomes à cellules rénales métastatiques issus de sites comprenant : la glande surrénale, la vessie, l'os, le cerveau, le sein, le foie, le poumon, le ganglion lymphatique, le muscle, le pancréas, l'intestin grêle, la thyroïde et la trachée (1, 2). Plusieurs études publiées montrent que la majorité des carcinomes rénaux à cellules claires (84-92 %) et papillaires (93-100 %) sont positifs pour le marqueur des CCR, bien que des taux de positivité inférieurs aient également été signalés (1-5). En revanche, l'expression du marqueur des CCR est nettement moins fréquente dans les carcinomes à cellules chromophobes (0-45 %) et seule une rare réactivité localisée a été observée dans l'oncocytome rénal (0-14 %) (2, 3, 4, 5).

L'expression du marqueur des CCR dans des tumeurs autres que les carcinomes à cellules rénales a été observée dans 10 cas sur 22 (45 %) de carcinomes canalaires infiltrants et intracanalaires du sein et dans 7 cas sur 8 (88 %) de carcinomes lobulaires *in situ* et infiltrants (1, 2). Une expression cytoplasmique et sur la surface des cellules a été observée dans 13 cas sur 13 (100 %) d'adénomes de la parathyroïde, tandis qu'une expression localisée a été mise en évidence dans 4 cas sur 11 (36 %) de carcinomes embryonnaires du testicule et dans 3 cas sur 40 (8 %) de mésothéliomes épithélioïdes, où la coloration était limitée à quelques cellules ou à de petits foyers dans la tumeur (1, 2, 5).

Se reporter aux « *Instructions générales de coloration immunohistochimique* » de Dako ou aux instructions du système de détection relatives aux procédures IHC pour plus d'informations concernant les points suivants : 1) Principe de procédure, 2) Matériels requis mais non fournis, 3) Conservation, 4) Préparation des échantillons, 5) Procédure de coloration, 6) Contrôle qualité, 7) Dépannage, 8) Interprétation de la coloration, 9) Limites générales.

Réactifs fournis

Anticorps monoclonal de souris prêt à l'emploi fourni sous forme liquide dans un tampon contenant une protéine stabilisante et 0,015 mol/L d'azide de sodium.

Clone : SPM314. Isotype : IgG2b, kappa.

Immunogène

Fraction microsomale d'un homogénat de tissu cortical rénal humain.

Spécificité

Par Western Blot de lysats de cellules Caki-1, l'anticorps marque une bande d'environ 200 kDa correspondant au poids moléculaire attendu du marqueur des carcinomes à cellules rénales.

Précautions

1. Pour utilisateurs professionnels.
2. Ce produit contient de l'azide de sodium (NaN_3), un produit chimique hautement toxique sous sa forme pure. Aux concentrations du produit, bien que non classé comme dangereux, l'azide de sodium peut réagir avec le cuivre et le plomb des canalisations et former des accumulations d'azides métalliques hautement explosifs. Lors de l'élimination, rincer abondamment à l'eau pour éviter toute accumulation d'azide métallique dans les canalisations.
3. Comme avec tout produit d'origine biologique, des procédures de manipulation appropriées doivent être respectées.
4. Porter un vêtement de protection approprié pour éviter le contact avec les yeux et la peau.
5. Les solutions non utilisées doivent être éliminées conformément aux réglementations locales et nationales.

Conservation

Conserver entre 2 et 8 °C. Ne pas utiliser après la date limite de péremption indiquée sur le flacon. Si les réactifs sont conservés dans des conditions autres que celles indiquées, celles-ci doivent être validées par l'utilisateur. Il n'y a aucun signe évident indiquant l'instabilité de ce produit. Par conséquent, des contrôles positifs et négatifs doivent être testés en même temps que les échantillons de patients. Si une coloration inattendue est observée, qui ne peut être expliquée par un changement des procédures du laboratoire, et en cas de suspicion d'un problème lié à l'anticorps, contacter l'assistance technique de Dako.

Préparation des échantillons y compris le matériel requis mais non fourni

L'anticorps peut être utilisé pour le marquage des coupes de tissus inclus en paraffine et fixés au formol. L'épaisseur des coupes d'échantillons de tissu doit être d'environ 4 µm.

Le prétraitement avec un démasquage d'épitope induit par la chaleur (HIER) est nécessaire. Pour obtenir des résultats optimaux, prétraiter les tissus à l'aide du produit EnVision™ FLEX, Target Retrieval Solution, Low pH (10x), (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (réf. K8015).

Coupes déparaffinées : Il est recommandé de prétraiter les coupes de tissus fixés au formol et inclus en paraffine qui ont été déparaffinées à l'aide de l'appareil PT Link de Dako (réf. PT100/PT101). Pour plus de détails, se reporter au Guide d'utilisation du PT Link.

Suivre la procédure de prétraitement indiquée dans la notice du produit EnVision™ FLEX, Target Retrieval Solution, Low pH (10x), (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (réf. K8015). Les paramètres suivants doivent être utilisés pour le PT Link : température de préchauffage : 65 °C ; température et durée du démasquage d'épitope : 97 °C pendant 20 (±1) minutes ; refroidissement jusqu'à 65 °C. Retirer le portoir à lames Autostainer contenant les lames de la cuve du PT Link et plonger immédiatement les lames dans un récipient/une cuve (par ex., station de rinçage du PT Link, réf. PT109) contenant du tampon de lavage EnVision™ FLEX Wash Buffer (10x), (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (réf. K8012) dilué à température ambiante. Laisser les lames dans le tampon de lavage pendant 1 à 5 minutes.

Coupes incluses en paraffine : Comme préparation alternative des échantillons, le déparaffinage et le démasquage d'épitope peuvent être réalisés dans l'appareil PT Link en utilisant une procédure modifiée. Consulter le Guide d'utilisation du PT Link pour obtenir des instructions. Une fois que la procédure de coloration est terminée, les coupes doivent être déshydratées, éclaircies et montées à l'aide d'un milieu de montage permanent.

Les coupes de tissus ne doivent pas sécher lors du traitement ni lors de la procédure de coloration immunohistochimique suivante. Pour une meilleure adhérence des coupes de tissus sur les lames de verre, il est recommandé d'utiliser des lames Dako Silanized Slides (réf. S3003).

Procédure de coloration y compris le matériel requis mais non fourni

Le système de visualisation recommandé est le système EnVision™ FLEX+, Mouse, High pH, (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (réf. K8012), en remplaçant la solution de démasquage des cibles à pH élevé de ce kit par le produit EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, Low pH (10x), (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (réf. K8015). Les étapes de coloration et les temps d'incubation sont préprogrammés dans le logiciel des appareils Dako Autostainer/Autostainer Plus, à l'aide des protocoles suivants :

Protocole modèle : FLEXRTU2 (volume de distribution de 200 µL) ou FLEXRTU3 (volume de distribution de 300 µL)

Programme automatique : RCC (sans contre-coloration) ou RCCH (avec contre-coloration)

L'étape Auxiliary doit être réglée sur « rinse buffer » lors des cycles de coloration avec ≤10 lames. Pour les cycles de coloration de >10 lames, l'étape Auxiliary doit être réglée sur « none ». Cela confirme des temps de lavage comparables.

Toutes les étapes d'incubation doivent être effectuées à température ambiante. Pour plus de détails, se reporter au Manuel de l'opérateur spécifique à l'appareil. Si les protocoles ne sont pas disponibles sur l'appareil Dako Autostainer utilisé, contacter l'assistance technique de Dako.

Les conditions optimales peuvent varier en fonction du prélèvement et des méthodes de préparation, et doivent être déterminées par chaque laboratoire individuellement. Si le pathologiste qui réalise l'évaluation désire une intensité de coloration différente, un ingénieur d'application/un spécialiste de l'assistance technique de Dako peut être contacté pour obtenir des informations sur la reprogrammation du protocole. Vérifier que les performances du protocole modifié sont toujours valides en vérifiant que le schéma de coloration est identique au schéma de coloration décrit à la section « Caractéristiques de performance ».

Il est recommandé d'effectuer une contre-coloration à l'hématoxyline à l'aide du produit EnVision™ FLEX Hematoxylin, (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (réf. K8018). L'utilisation d'un milieu de montage permanent non aqueux est recommandée.

Des contrôles positifs et négatifs doivent être testés en même temps et avec le même protocole que les échantillons de patients. Le tissu de contrôle positif doit comprendre le rein et les cellules/structures doivent présenter des schémas de réaction semblables à ceux décrits pour ce tissu à la section « Caractéristiques de performance » pour tous les échantillons positifs. Le réactif de contrôle négatif recommandé est le produit FLEX Negative Control, Mouse, (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (réf. IS750).

Interprétation de la coloration

Le schéma de coloration cellulaire est membranaire. Une coloration cytoplasmique peut être observée.

Caractéristiques de performance

Tissus sains : Parmi les tissus sains, l'anticorps a marqué la surface apicale de l'épithélium des tubules corticaux du rein (tubules proximaux) ainsi que des régions localisées de la capsule de Bowman dans 3 échantillons de rein sur 3. Les cellules endocrines dans 2 échantillons sur 3 de parathyroïde étaient marquées et une expression localisée a été observée dans les cellules folliculaires et dans la colloïde de 1 échantillon de thyroïde sur 2. Dans 2 tissus mammaires sur 2, un marquage était présent dans certaines régions le long des surfaces luminales et dans les sécrétions intraluminales des lobules et des canaux. Aucun marquage n'a été observé dans les autres types de tissus testés, y compris la glande surrénale, la moelle osseuse, le cervelet, les hémisphères cérébraux, le col de l'utérus, le côlon, l'œsophage, le cœur, le foie, le poumon, les cellules mésothéliales, le nerf périphérique, l'ovaire, le pancréas, l'hypophyse, la prostate, la glande salivaire, le muscle squelettique, la peau, l'intestin grêle, la rate, l'estomac, le testicule, le thymus, l'amygdale et l'utérus.

Deutsch — Code-Nr. IS075

Zweckbestimmung

Zur In-vitro-Diagnostik.

FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Renal Cell Carcinoma Marker, Clone SPM314, Ready-to-Use (Dako Autostainer/Autostainer Plus) ist zur Verwendung in der Immunhistochemie in Verbindung mit Dako Autostainer/Autostainer Plus-Geräten bestimmt. Dieser Antikörper dient zur Identifikation von Nierenzellkarzinomen. Die klinische Auswertung einer eventuell eintretenden Färbung sollte durch morphologische Studien mit geeigneten Kontrollen ergänzt werden und von einem qualifizierten Pathologen unter Berücksichtigung der Krankengeschichte und anderer diagnostischer Tests des Patienten vorgenommen werden.

Synonym für das Antigen

gp200 (1).

Zusammenfassung und Erklärung

Renal Cell Carcinoma (RCC) Marker gp200 ist ein Oberflächenmembran-Glykoprotein, das im Bürstensaumepithel der Pars convoluta- und der Pars recta-Segmente des proximalen Nierentubulus und fokal auf der luminalen Oberfläche der Bowman-Kapsel lokalisiert wurde, die an den ausgehenden proximalen Tubulus angrenzt. Berichten zufolge ist die Expression in anderen normalen Gewebearten auf die luminale Oberfläche der Brustläppchen und -gänge und auf das epididymale Tubulusepithel beschränkt. Zudem wurde eine zytoplasmatische Expression in Parenchymzellen der Nebenschilddrüse und eine fokale Immunreaktivität im Schilddrüsenkolloid nachgewiesen.

Die RCC-Marker-Expression wurde bei 80–93 % der primären Nierenzellkarzinome und bei 67–84 % der Fälle von metastatischen Nierenzellkarzinomen in folgenden Geweben beobachtet: Nebenniere, Blase, Knochen, Hirn, Brust, Leber, Lunge, Lymphknoten, Muskel, Pankreas, Dünndarm, Schilddrüse und Luftröhre (1, 2). Mehrere Studien haben gezeigt, dass die Mehrheit der klarzelligen (84–92 %) und der papillären (93–100 %) Nierenzellkarzinome RCC-Marker-positiv sind. Es wurden jedoch auch niedrigere Positivitätsraten beobachtet (1–5). Im Gegensatz dazu ist die RCC Marker-Expression bei chromophoben Zellkarzinomen (0–45 %) weniger häufig und bei renalen Onkozytomen wurde eine fokale Reaktivität nur selten (0–14 %) beobachtet (2, 3, 4, 5).

Die Expression von RCC-Markern in anderen Tumoren als Nierenkarzinomen wurde bei 10 von 22 (45 %) der intraduktalen und infiltrierenden Duktalkarzinome der Brust und bei 7 von 8 (88 %) der in situ und infiltrierenden lobularen Brustkarzinome beobachtet (1, 2). Zelloberflächen- und zytoplasmatische Expression wurde bei 13 von 13 (100 %) Nebenschilddrüsenadenomen beobachtet, wohingegen sich die fokale Expression bei 4 von 11 (36 %) der Embryonalkarzinome der Hoden und bei 3 von 40 (8 %) der epitheloiden Mesotheliome zeigte, wobei die Färbung auf einige wenige Zellen oder kleine Foci des Tumors beschränkt war (1,2,5).

Folgende Angaben bitte den *Allgemeinen Richtlinien zur immunhistochemischen Färbung* von Dako bzw. den Anweisungen des Detektionssystems für IHC-Verfahren entnehmen: 1) Verfahrensprinzip, 2) Erforderliche, aber nicht mitgelieferte Materialien, 3) Aufbewahrung, 4) Vorbereitung der Probe, 5) Färbeverfahren, 6) Qualitätskontrolle, 7) Fehlersuche und -behebung, 8) Auswertung der Färbung, 9) Allgemeine Beschränkungen.

Geliefertes Reagenz

Gebrauchsfertiger, monoklonaler Maus-Antikörper in flüssiger Form in einem Puffer, der stabilisierendes Protein und 0,015 mol/L Natriumazid enthält.

Clone: SPM314. Isotyp: IgG2b, Kappa.

Immunogen

Mikrosomale Fraktion von menschlichem Nebennierenrinden-Homogenat.

Spezifität

Beim Western-Blot von Caki-1-Zelllysaten markiert der Antikörper eine Bande von ungefähr 200 kDa, was mit dem erwarteten Molekulargewicht des Renal Cell Carcinoma Marker übereinstimmt.

Vorsichtsmaßnahmen

1. Für Fachpersonal.
2. Dieses Produkt enthält Natriumazid (NaN_3), eine in reiner Form äußerst giftige Chemikalie. Natriumazid kann auch in als ungefährlich eingestuften Konzentrationen mit Blei- und Kupferrohren reagieren und hochexplosive Metallazide bilden. Nach der Entsorgung stets mit viel Wasser nachspülen, um Metallazidansammlungen in den Leitungen vorzubeugen.
3. Wie alle Produkte biologischen Ursprungs müssen auch diese entsprechend gehandhabt werden.
4. Geeignete Schutzkleidung tragen, um Augen- und Hautkontakt zu vermeiden.
5. Nicht verwendete Lösung ist entsprechend örtlichen, bundesstaatlichen und staatlichen Richtlinien zu entsorgen.

Lagerung

Bei 2–8 °C aufbewahren. Nach Ablauf des auf dem Fläschchen aufgedruckten Verfallsdatums nicht mehr verwenden. Werden die Reagenzien nicht entsprechend den angegebenen Bedingungen aufbewahrt, müssen die Bedingungen vom Anwender geprüft werden. Es gibt keine offensichtlichen Anzeichen für eine eventuelle Produktinstabilität. Positiv- und Negativkontrollen sollten daher zur gleichen Zeit wie die Patientenproben getestet werden. Falls es zu einer unerwarteten Färbung kommt, die sich nicht durch Unterschiede bei Laborverfahren erklären lässt und auf ein Problem mit dem Antikörper hindeutet, ist der technische Kundendienst von Dako zu verständigen.

Vorbereitung der Probe und erforderliche, aber nicht mitgelieferte Materialien

Der Antikörper eignet sich zur Markierung von formalinfixierten und paraffineingebetteten Gewebeschnitten. Gewebeproben sollten in Schnitte von ca. 4 µm Stärke geschnitten werden.

Es ist eine Vorbehandlung mit hitzeinduzierter Epitopdemaskierung (HIER-Verfahren) erforderlich. Optimale Ergebnisse können durch Vorbehandlung der Gewebe mit EnVision™ FLEX, Target Retrieval Solution, Low pH (10x), (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Code-Nr. K8015) erzielt werden.

Entparaffinierte Schnitte: Die Vorbehandlung entparaffinierter formalinfixierter, paraffineingebetteter Gewebeschnitte sollte mit dem System Dako PT Link (Code-Nr. PT100/PT101) erfolgen. Weitere Informationen hierzu: siehe PT Link-Benutzerhandbuch.

Vorbehandlung gemäß der Beschreibung in der Packungsbeilage für EnVision™ FLEX, Target Retrieval Solution, Low pH (10x), (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Code-Nr. K8015) durchführen. Für das PT Link-System sollten die folgenden Parameter verwendet werden: Vorwärmtemperatur: 65 °C; Temperatur und Zeit für Epitopdemaskierung: 97 °C für 20 (±1) Minuten; auf 65 °C abkühlen. Das Autostainer Objektträgergestell mit den Objektträgern aus dem PT Link-Behälter herausnehmen und die Objektträger sofort in einen Behälter (z. B. PT Link Rinse Station, Code-Nr. PT109) mit verdünntem, auf Zimmertemperatur gebrachtem EnVision™ FLEX Wash Buffer (10x), (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Code-Nr. K8012) eintauchen. Die Objektträger für 1–5 Minuten im Waschpuffer belassen.

Paraffineingebettete Schnitte: Alternativ können Entparaffinierung und Epitopdemaskierung im PT Link unter Verwendung eines modifizierten Verfahrens durchgeführt werden. Weitere Informationen finden Sie im PT Link-Benutzerhandbuch. Nach Abschluss des Färbeverfahrens müssen die Schnitte dehydriert, geklärt und unter Verwendung eines permanenten Fixiermittels auf die Objektträger aufgebracht werden.

Die Gewebeschnitte dürfen während der Behandlung oder während des anschließenden immunhistochemischen Färbeverfahrens nicht austrocknen. Zur besseren Haftung der Gewebeschnitte an den Glasobjektträgern wird die Verwendung von Dako Silanized Slides (Code-Nr. S3003) empfohlen.

Färbeverfahren und erforderliche, aber nicht mitgelieferte Materialien

Das empfohlene Visualisierungssystem ist EnVision™ FLEX+, Mouse, High pH, (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Code-Nr. K8012), das die High pH Target Retrieval Solution dieses Systems durch EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, Low pH (10x), (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Code-Nr. K8015) ersetzt. Die Färbeschritte und Inkubationszeiten sind in der Software von Autostainer Dako Autostainer/Autostainer Plus-Geräten mit den folgenden Protokollen vorprogrammiert:

Matrix-Protokoll: FLEXRTU2 (200 µl Anwendungsvolumen) oder FLEXRTU3 (300 µl Anwendungsvolumen)

Autoprogramm: RCC (ohne Gegenfärbung) oder RCCH (mit Gegenfärbung)

Bei Färbedurchläufen mit höchstens 10 Objektträgern sollte der Zusatz-Schritt auf „Pufferspülgang“ eingestellt werden. Für Färbedurchläufe mit mehr als 10 Objektträgern den Zusatz-Schritt auf „Keine“ einstellen. Dies gewährleistet vergleichbare Waschzeiten.

Alle Inkubationsschritte bei Raumtemperatur durchführen. Nähere Einzelheiten bitte dem Benutzerhandbuch für das jeweilige Gerät entnehmen. Wenn die Protokolle auf dem verwendeten Autostainer-Gerät nicht verfügbar sind, wenden Sie sich an den technischen Kundendienst von Dako.

Optimale Bedingungen können je nach Probe und Präparationsverfahren unterschiedlich sein und sollten vom jeweiligen Labor selbst ermittelt werden. Falls der beurteilende Pathologe eine andere Färbungsintensität wünscht, kann ein Anwendungsspezialist oder Kundendiensttechniker von Dako bei der Neuprogrammierung des Protokolls helfen. Die Leistung des angepassten Protokolls muss verifiziert werden, indem gewährleistet wird, dass das Färbemuster mit dem unter „Leistungsmerkmale" beschriebenen Färbemuster identisch ist.

Die Gegenfärbung in Hämatoxylin sollte mit EnVision™ FLEX Hematoxylin, (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Code-Nr. K8018) ausgeführt werden. Empfohlen wird ein nichtwässriges, permanentes Fixiermittel.

Positiv- und Negativkontrollen sollten zur gleichen Zeit und mit demselben Protokoll wie die Patientenproben getestet werden. Als positive Kontrolle sollte Nierengewebe verwendet werden, und die Zellen/Strukturen müssen in allen positiven Proben die für dieses Gewebe unter „Leistungsmerkmale" beschriebenen Reaktionsmuster aufweisen. Das empfohlene Negativ-Kontrollreagenz ist FLEX Negative Control, Mouse, (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Code-Nr. IS750).

Auswertung der Färbung

Das zelluläre Färbemuster ist membranös. Eine zytoplasmatische Färbung kann beobachtet werden.

Leistungsmerkmale

Normale Gewebe: Bei normalem Gewebe markiert der Antikörper die apikale Oberfläche des Epithels der Nebennierentubuli (proximale Tubuli) und fokale Bereiche der Bowman-Kapsel in 3 von 3 Nieren. Endokrine Zellen wurden bei 2 von 3 Nebenschilddrüsen markiert, und eine fokale Expression wurde in den Follikelzellen und im Kolloid von 1 von 2 Schilddrüsen beobachtet. Bei 2 von 2 Brustgeweben war die Markierung regional entlang der luminalen Oberflächen und im intraluminalen sekretorischen Material der Lobuli und Ducti vorhanden. Bei anderen getesteten Geweben wurde keine Färbung beobachtet: Nebennieren, Knochenmark, Zerebellum, Zerebrum, Zervix, Dickdarm, Speiseröhre, Herz, Leber, Lunge, Mesothelzellen, periphere Nerven, Ovarien, Pankreas, Hypophyse, Prostata, Speicheldrüse, Skelettmuskulatur, Haut, Dünndarm, Milz, Magen, Hoden, Thymus, Mandeln und Uterus.

References
Bibliographie
Literaturangaben

1. Yoshida S, Imam A. Monoclonal antibody to a proximal nephrogenic renal antigen: immunohistochemical analysis of formalin-fixed, paraffin-embedded human renal cell carcinomas. Cancer Res 1989;49:1802-9.
2. McGregor DK, Khurana KK, Cao C, Tsao CC, Ayala G, Krishnan B, et al. Diagnosing primary and metastatic renal cell carcinoma. Am J Surg Pathol 2001;25:1485-92.
3. Avery AK, Beckstead J, Renshaw AA, Corless CL. Use of antibodies to RCC and CD10 in the differential diagnosis of renal neoplasms. Am J Surg Pathol 2000;24:203-10.
4. Pan C-C, Chen PC-H, Ho, D M-T. The diagnostic utility of MOC31, BerEP4, RCC marker and CD10 in the classification of renal cell carcinoma and renal oncocytoma: an immunohistochemical analysis of 328 cases. Histopathol 2004;45:452-9.
5. Ordonez NG. The diagnostic utility of immunohistochemistry in distinguishing between mesothelioma and renal cell carcinoma: a comparative study. Human Pathol 2004;35:697-710.

REF Catalogue number Référence du catalogue Bestellnummer	Temperature limitation Limites de température Zulässiger Temperaturbereich	IVD In vitro diagnostic medical device Dispositif médical de diagnostic in vitro In-vitro-Diagnostikum
Manufacturer Fabricant Hersteller	LOT Batch code Code du lot Chargenbezeichnung	Σ Contains sufficient for <N> tests Contenu suffisant pour <n> tests Inhalt ausreichend für „n" Ansätze
Use by Utiliser jusque Verwendbar bis	Consult instructions for use Consulter les instructions d'utilisation Gebrauchsanweisung beachten	EC REP Authorized representative in the European Community Représentant Autorisé dans la Communauté Européenne Autorisierter Repräsentant in der EU

PT0020/ Rev C

Dako North America, Inc.
6392 Via Real
Carpinteria, California 93013 USA

Tel 805 566 6655
Fax 805 566 6688
Technical Support 800 424 0021
Customer Service 800 235 5763

EC REP
Dako Denmark A/S
Produktionsvej 42
DK-2600 Glostrup Denmark

Tel +45 4485 9500
Fax +45 4485 9595

www.dako.com

Edition 04/08